

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. L. HEILMEYER)

Über die Entgiftung von endogenen und exogenen Reizstoffen durch zweiwertige Eisenionen

Kurzfassung der
Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

vorgelegt von
Horst Brunschede
Düsseldorf
1 9 6 0

Dekan: Prof. Dr. med. R. HAAS
Referent: Dozent Dr. med. F. WÖHLER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545301_0025

Entgiftung von endogenen und exogenen Reizstoffen durch zweiwertige Eisenionen

Von

H. BRUNSCHEDÉ

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. L. HEILMEYER)



Von HEILMEYER, KEIDERLING und STÜWE wurde schon 1941 auf Grund ihrer Eisenstoffwechselstudien die Vermutung ausgesprochen, daß das im RES gespeicherte Eisen eine unspezifische Schutzfunktion beim Abwehrgeschehen einnehmen könnte. Sie gingen dabei von der Tatsache aus, daß beim Infekt und bei

anderen Krankheitsprozessen offenbar ein Abströmen des Plasmaeisens in die Zellen des RES, vor allem in die Milz, stattfindet.

Neben dem beschleunigten Abwandern des Eisens aus der Blutbahn in das RES ergeben sich beim Infekt weitere charakteristische Umstellungen im Eisen-

stoffwechsel. So kommt es zum Abfall des Serum-eisens, wobei die latente Bindungskapazität aufrecht erhalten bleibt (THOENES u. ASCHAFFENBURG; LOCKE, MAIN u. ROSSBACH; HEILMEYER u. PLÖTNER; HEMMELER, VAHLQUIST, LAURELL u.v.a.). Gleichzeitig ist die Eisenresorption aus dem Darm erhöht (DUBACH, CALLENDER u. MOORE; SCHÄFER u. BREYER; HEILMEYER, KEIDERLING u. WÖHLER). Da ebenfalls auch ein verstärkter Erythrocytenabbau vorhanden ist, dürfte dem RES im Infektzustand auch Hämolyse-Eisen zur Verfügung stehen, welches als Hämosiderin gespeichert wird (HEILMEYER, KEIDERLING u. WÖHLER; KEIDERLING, FRANK u. SCHMIDT). Dieser Zustand wurde von HEILMEYER als „angeregter Zustand des Eisenstoffwechsels“ bezeichnet. Das in der Form des Hämosiderins gespeicherte Eisen ist histochemisch mittels der Berliner Blau-Reaktion leicht darstellbar. Es findet sich bevorzugt in den Reticuloendothelien, in denen bekanntlich Antikörper gebildet werden. Dieselben Zellen haben aber auch die Funktion, Toxine und Zerfallsprodukte des Organismus aus der Blutbahn zu entfernen.

Diese Tatsachen legen den Schluß nahe, daß das Eisen bei der Entgiftung von Toxinen und körpereigenen Abbauprodukten eine entscheidende Rolle spielen könnte. HEILMEYER und WÖHLER gelang es dann in Verfolgung dieser Möglichkeit, in ausgedehnten Tierversuchen zu zeigen, daß den Eisenionen des nativen Hämosiderins, welche bei einem pH unter 6, wie es in der inneren Zelle vorkommt, oder unter dem Einfluß reduzierender Substanzen leicht abgespalten werden können, eine wesentliche Bedeutung für die Entgiftung von Bakterientoxinen und sonst tödlichen Gewebszerfallsprodukten zukommt. Die genannten Autoren nehmen an, daß es auch innerhalb der Zelle, sei es mit Hilfe eines leicht sauren pH oder reduzierender Stoffe, zur Abspaltung von zweiwertigen Eisenionen kommt, welche die aufgenommenen Giftstoffe zu neutralisieren vermögen.

Einen weiteren Hinweis auf eine wahrscheinliche Entgiftung durch das Speichereisen ergaben die tierexperimentellen Anreicherungsversuche von Eisen im Entzündungsgebiet, sowie die histochemische Eisendarstellung in entzündlich verändertem Gewebe, welches bei operativen Eingriffen gewonnen werden konnte (HEILMEYER u. WÖHLER; HEILMEYER, WÖHLER u. RUSCHE). Hier ließ sich sogar zeigen, daß Langhanssche Riesenzellen Hämosiderin gespeichert hatten, was vielleicht im Sinne einer Unschädlichmachung des Tuberkulotoxins gedeutet werden kann.

Es war nun naheliegend zu untersuchen, in welchem Maße auch gereinigte endogene und exogene Reizstoffe durch Fe-II-Ionen in ihrer Wirkung beeinflusst werden können.

Die Möglichkeiten hierzu waren durch die grundlegenden Untersuchungen von MENKIN u. Mitarb. gegeben, welche schon 1936 erste Isolierungsversuche von endogenen Reizstoffen durchführten. Diese Substanzen konnten zum Teil kristallin dargestellt und angereichert werden. So kennt man das Leukotaxin, ein relativ einfaches Polypeptid. Es soll für die Leukotaxis verantwortlich sein, gleichzeitig verursacht es aber einen Anstieg der Capillarpermeabilität. Exudin ist ebenfalls ein einfaches Polypeptid, welches durch sein Freiwerden aus den geschädigten Zellen für den Serumaustritt in den extracapillaren Raum während

des weiteren Verlaufs der Entzündung verantwortlich ist. Weiterhin konnten verschiedene die Leukocytose fördernde sowie auch leukopenische Faktoren isoliert werden. Von MENKIN wurde gleichfalls auf die Bedeutung der Proteolyse beim Entzündungsgeschehen hingewiesen. Diese soll durch Necrosin unterhalten werden, einem proteinspaltenden Ferment mit optimaler Wirkung bei pH 7,7–8,2. Außerdem gelang es dem genannten Autor, den für das Fieber verantwortlichen Faktor aus entzündlichem Exsudat zu isolieren, welcher als Pyrexin bezeichnet wurde.

Im Gegensatz zu diesen niederen Peptiden konnte SPECTOR im Jahre 1951 zeigen, daß bei entzündlichen Prozessen auch höhere Peptide eine Rolle spielen. So gelang es, durch peptischen und tryptischen Abbau von Fibrin und Serumalbumin Peptide zu isolieren, die den Menkinschen Stoffen weitgehend ähnelten.

Andere Autoren suchten das Auftreten solcher endogenen Reizstoffe nach operativ gesetzten Traumen am Menschen zu klären. Von SCHUMACHER u. a. konnten dabei aus dem Urin von Patienten solche wirksamen Substanzen dargestellt werden.

Eine Methode zur Gewinnung dieser Stoffe gaben WESTPHAL u. KICKHÖFEN an. Dabei lassen sich die im Urin befindlichen Reizstoffe mit verhältnismäßig groben Fraktionierungsverfahren anreichern und nach Verteilung zwischen Phenol und Wasser in eine wasser- und eine phenollösliche Fraktion trennen. Während die wäßrige Phase aus polysaccharidhaltigem Material besteht, finden sich in der phenollöslichen vor allem Peptide.

Diese grundlegende Methode benützte auch REHN bei der Durchführung seiner Isolierungsversuche von endogenen Reizstoffen bei Patienten mit Bronchialcarcinomen, Rectumcarcinom, maligner Struma, Bronchiektasen, Verbrennungen usw. Dabei zeigte sich, daß immer dann die Reizstoffausscheidung besonders groß war, wenn der krankhafte Prozeß mit einem starken Eiweißzerfall einherging.

Neben diesen endogenen Reizstoffen sind aber für das entzündliche Geschehen auch exogene Reizstoffe von großer Bedeutung.

Solche Stoffe wurden von WESTPHAL, LÜDERITZ u. KEIDERLING nach Spezialverfahren aus verschiedenen Species pathogener und apathogener gramnegativer Keime dargestellt. Es gelang diesen Autoren, die wirksamen Reizstoffe chemisch hoch zu reinigen und zu differenzieren und ihre biologischen und pharmakologischen Wirkungen zu analysieren. Dabei zeigte sich, daß wenigstens drei chemisch und biologisch scharf unterscheidbare Gruppen von Reizstoffen zu isolieren waren, und zwar Polysaccharide, Proteine und Nucleinsäuren. Von diesen erwiesen sich die Polysaccharide als die wirksamsten Substanzen. Auf Grund ihrer Versuche mit diesen Stoffen kamen WESTPHAL u. Mitarb. zu der Auffassung, daß die verschiedenartigsten bakteriellen Pyrogene zunächst an der Zelloberfläche fixiert werden. Durch diese Zellreizung sollen dann endogene (sekundäre) Reizstoffe frei werden, die ihrerseits die humoralen Entzündungserscheinungen verursachen. Dieser Mechanismus würde im Prinzip der gleiche Vorgang sein, den auch MENKIN für die Entstehung von Leukotaxin, Exudin, Nekrosin, Pyrexin usw. angab.

Bei der Prüfung von exogenen Reizstoffen an gesunden Versuchspersonen und im Tierexperiment

konnten KEIDERLING, WÖHLER u. WESTPHAL im Jahre 1952 zeigen, daß diese Fieber auslösen und charakteristische Veränderungen des weißen Blutbildes hervorrufen. Besonders wichtig dabei war aber, daß gleichzeitig eine Aktivierung des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems erfolgte, wobei die strukturellen Veränderungen der Nebennierenrinde auf eine morphokinetische Umwandlung im Sinne einer progressiven Transformation hinweisen. Dies konnte durch Untersuchungen über das Verhalten der Nebennierenrinden-Lipoide, der Zellkernvolumina und der Mitoseaktivität geklärt werden (WÖHLER).

Nachdem die Teilnahme exogener bzw. endogener Reizstoffe am entzündlichen Geschehen außer Frage steht, andererseits gezeigt werden konnte, daß dem Eisen bei der Entgiftung im Organismus eine besondere Bedeutung zukommt, erschien es von großer Wichtigkeit, die Möglichkeit einer Entgiftung gereinigter endogener und exogener Reizstoffe durch Fe-II-Ionen in tierversimentellen Studien zu klären.

Material und Methoden

Material. Die Untersuchungen wurden an 60 gesunden Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht von 2,5 kg durchgeführt. Die Versuchstiere erhielten eine einheitliche Ernährung aus Rüben, Körnern und Grünfütter. Alle Versuche wurden bei Zimmertemperatur durchgeführt.

Zur Prüfung der Frage, ob zwei- oder dreiwertige Eisenionen schon allein bestimmte Blutbildveränderungen hervorrufen können, wurden steigende Dosen des zweiwertigen Eisenpräparates Ce-Ferro (Fa. Nordmark GmbH, Hamburg) Kaninchen intravenös injiziert. Dabei gelangten 0,5, 2,5, 5 und 10 mg Fe-II-Ionen zur Injektion. Vergleichend wurde ein dreiwertiger Eisen-Saccharat-Komplex, Ferrum vitis (Vitis GmbH, Hösel) intravenös injiziert, wobei darauf geachtet wurde, daß die Menge der Fe-III-Ionen jeweils 0,5, 2,5 und 5 mg betrug. In diesem Zusammenhang wurde auch die Wirkung von Kupferionen untersucht. Hierfür erhielten die Tiere in Aqua dest. gelöstes Cuprisulfat p.A. (Fa. Merck, Darmstadt) intravenös appliziert. Dabei betrug die Einzeldosis jeweils 2,5, 5 und 10 mg Kupfer-II-Sulfat, was einem Gehalt von 1, 2 und 4 mg Kupfer-II-Ionen entspricht. Die bei diesen Versuchen angegebenen Dosen beziehen sich alle auf 1 kg Körpergewicht von Kaninchen.

Die phenollöslichen Substanzen wurden dankenswerterweise von Herrn Oberarzt Doz. Dr. J. REHN* zur Verfügung gestellt. Sie waren nach der Methode von KICKHÖFEN aus Patientenurin dargestellt worden und stammten von Patienten mit folgenden Erkrankungen: Bronchiektasen (Reizstoff Nr. 1), blutendes Ulcus ventriculi (Nr. 2), Bronchialcarcinom (Nr. 3), Bronchiektasen (Nr. 4), Verbrennungen (Nr. 5), Rectum-Ca (Nr. 6), Rectum-Ca (Nr. 7), Unterschenkelfraktur, Commotio cerebri (Nr. 8), Rectum-Ca (Nr. 9), Zustand nach Resektion mit Aufhebung der GE (Nr. 10).

Als bakterielle Reizstoffe kamen ein hochgereinigtes Lipopolysaccharid aus *Salmonella abortus equi*-Keimen (Pyrexal, Fa. Wander GmbH, Osthofen a. Rh.) und eine weitere hochgereinigte Lipopolysaccharidfraktion (Bezeichnung Hu 27), welche uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. O. WESTPHAL (Leiter des Forschungsinstitutes der Fa. Wander A G, Freiburg) überlassen wurde, in einer Dosis von je 0,5 γ /kg Körpergewicht zur Anwendung. Diese Menge war in 1 cm³ Aqua dest. gelöst.

Um eine mögliche Beeinflussung der Wirkung dieser bakteriellen Reizstoffe näher zu untersuchen, setzten wir der Lösung Eisen und reduzierende Substanzen zu. So verwandte man Ferrum sulfuricum siccum (DAB 6), wobei etwa 36% der Verbindung dem Fe-II-Ionen-Gehalt entspricht. Weiterhin kam Ferrum sesquichloratum purum crystallinum (Fa. Merck, Darmstadt) zur Anwendung. Etwa ein Drittel dieser Verbindung liegt in Form von Fe-III-Ionen vor. Für die Überlassung von Eisen- γ -oxydhydrat sind wir Herrn Prof. Dr. H. J. BIELIG, Max Planck-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg,

Institut für Chemie (Direktor: Prof. Dr. R. KUHN) zu Dank verpflichtet.

Vergleichsweise zu den aufgeführten Eisenpräparaten prüften wir die Wirkung des nativen Hämosiderins, welches von WÖHLER in schonender Weise aus Pferdemiß gewonnen worden war. Weiterhin untersuchten wir den Einfluß von reduzierenden Substanzen. Als solche kamen Acidum ascorbicum p.A. (Fa. Merck, Darmstadt) und L(+)-Cysteinum hydrochloricum (Fa. Merck, Darmstadt) zur Anwendung.

Zur Prüfung einer möglichen Beeinflussung der capillartoxischen Wirkung von phenollöslichen Substanzen setzte man je 1,2 mg Ferrosulfat und Ferrichlorid sowie 5 mg Eisen- γ -oxydhydrat einer Reizstofflösung von 40 γ /0,4 ml physiologischer NaCl zu. Weiterhin wurden 40 γ Reizstoff einer Lösung von 0,4 mg Hämosiderineisen/0,75 cm³ 0,9%iger NaCl zugegeben. Zur Untersuchung der Wirkung von reduzierenden Substanzen kamen jeweils 20 mg Ascorbinsäure und 10 mg Cystein/40 γ Reizstoff zur Anwendung, wobei dieser in 0,4 cm³ einer 0,9%igen Kochsalzlösung gelöst worden war. Die vorstehenden Dosen wurden in der angegebenen Konzentration den Kaninchen intrautan als Quaddeln injiziert.

Um die Beeinflussung der Wirkung von bakteriellen Reizstoffen zu untersuchen, wurden je 1,5 mg Ferrosulfat und Ferrichlorid zu je 0,5 γ Reizstoff gegeben, welche in 1 cm³ Aqua dest. gelöst waren. Weiterhin wurden 6,25 mg Eisen- γ -oxydhydrat einer Lösung von 0,5 γ Reizstoff/1 cm³ Aqua dest. zugesetzt. Hämosiderineisen gab man in einer Konzentration von 1,286 mg Fe-II-Ionen/2 cm³ Aqua dest. zu einer Reizstofflösung von 0,5 γ /1 cm³ Aqua dest. Außer diesen Eisenpräparaten löste man als reduzierende Substanzen je 12,5 mg Cystein und 25 mg Ascorbinsäure in einer Lösung von 0,5 γ Reizstoff/1 cm³ Aqua dest. Alle angegebenen Dosen wurden pro kg Körpergewicht Kaninchen verabreicht. Die entsprechenden Lösungen wurden jeweils 6 Std bei 37° inkubiert und dann intravenös verabfolgt.

Methoden. Durch die Versuche wurde zunächst zu klären versucht, ob zwei- und dreiwertige Eisenionen sowie Kupferionen in der Lage sind, die Zahl der Leukocyten zu beeinflussen, wobei die Zellen nach Färbung mit Türkischer Lösung in einer Neubauer-Kammer gezählt wurden. Die Blutbilder färbte man 5 min in konzentrierter und weitere 5 min in einer zur Hälfte mit Aqua dest. verdünnten May-Grünwaldschen Lösung. Dabei erfolgte die Blutentnahme zur Untersuchung jeweils vor Beginn des Versuchs und dann nach 2, 4, 8 und 24 Std.

Der Nachweis der Erhöhung der Capillarpermeabilität durch die phenollöslichen Substanzen erfolgte im Trypanblau-Test am Kaninchen nach MENKIN. Der Bauch eines Kaninchens mit möglichst heller Hautfarbe wurde glattgeschoren, sodann injizierten wir jeweils 40 γ phenollöslicher Substanz, gelöst in 0,4 ml physiologischer NaCl zur Quaddelbildung. Nach dem Setzen der letzten Quaddel wurden in eine Ohrvene 3 cm³ einer 1,8%igen Trypanblau-Lösung injiziert. Innerhalb kurzer Zeit kann dann konzentrisch um die Einstichstellen eine Blaufärbung der Haut beobachtet werden.

Nach Prüfung der capillartoxischen Wirkung der phenollöslichen Reizstoffe im Tierexperiment wurde die Beeinflussung dieses Geschehens durch Eisen und reduzierende Substanzen untersucht. So setzte man je 1,2 mg Ferrichlorid und Ferrosulfat einer Reizstofflösung von 40 γ /0,4 ml physiologischer NaCl zu.

Als weiteres Eisenpräparat wurden 5 mg Eisen- γ -oxydhydrat in der gleichen Reizstoffmenge gelöst, während man 0,4 mg Hämosiderineisen zu einer Lösung von 40 γ Reizstoff/0,75 ml physiologischer NaCl gab. Als reduzierende Substanzen kamen jeweils 20 mg Ascorbinsäure und 10 mg Cystein pro 40 γ Reizstoff zur Anwendung, wobei dieser in 0,4 ml 0,9%iger NaCl gelöst wurde. Die entsprechenden Lösungen injizierte man zur Quaddelbildung intrautan.

Hochgereinigtes bakterielles Lipopolysaccharid (Pyrexal, Fa. Wander) kam in einer Konzentration von 0,5 γ /1 ml/kg zur intravenösen Applikation. Zunächst wurden die Ausgangswerte der Temperatur, der Leukocyten und des Differentialblutbildes bestimmt, wobei die Temperatur mit einem Fieberthermometer rectal gemessen wurde, während die Zählung der Leukocyten nach Färbung mit Türkischer Lösung in der Neubauer-Zählkammer erfolgte. Die Blutbilder färbte man 5 min in konzentrierter und weitere 5 min in einer zur Hälfte mit Aqua dest. verdünnten May-Grünwaldschen Lösung. Alle Werte wurden in Abständen von 15 min, 1, 2, 4, 6 und etwa 24 Std nach der Injektion kontrolliert.

* Chirurgische Univ.-Klinik, Freiburg i. Br. Direktor: Prof. Dr. H. KRAUSS.

Zur Bestimmung der Albumine, Globuline, der Glyko- und der Lipoproteide gingen wir wie folgt vor. Bei der Blutentnahme eröffnete man mit einer feinen Kanüle ein Ohrgefäß. Das Blut wurde 30 min bei 2500 U/min zentrifugiert. Das so erhaltene Serum trug man zur Glyko- und Lipoproteidelektrophorese in einer Menge von 0,1 cm³ und für die Serumproteinelektrophorese in einer Menge von 0,008 cm³ auf Whatman-Papier Nr. 1 auf. Die beste Auftrennung des Serums ergab sich bei Verwendung des Veronalnatriumpuffers mit einem pH von 8,6 und einer Stromstärke von 110 Volt in 16 Std. Da die Trennung der α - und β -Globulinfractionen bei der Verwendung der großen Serummenge, die zur Bestimmung der Glyko- und Lipoproteide notwendig waren, oft nicht mit der erforderlichen Deutlichkeit gelingt, mußte man darauf verzichten, zwischen einzelnen Glyko- bzw. Lipoproteidfractionen zu unterscheiden.

Alle Angaben der Glyko- bzw. Lipoproteide beziehen sich somit auf den jeweiligen Gesamtgehalt dieser Fractionen im Serum.

Es zeigte sich, daß die Aufstellung von Normalwerten für die Serumproteinfractionen und die Glyko- und Lipoproteide nur bedingt möglich war, da immer wieder größere Schwankungen zwischen den einzelnen Tieren beobachtet wurden. Man bestimmte daher von jedem Tier direkt vor Versuchsbeginn die jeweiligen Ausgangswerte, um sichere Vergleiche anstellen zu können.

Die Serum-Proteinfärbung erfolgte nach GRASSMANN und HANNIG. Reagentien: 1. Amidoschwarz 10B (Bayer), 2. Methylalkohol-Essigsäuregemisch: Methylalkohol 9 Teile, Essigsäure etwa 99% 1 Teil. Auf 3–4 g Amidoschwarz 10B wurde 500 cm³ Methylalkohol-Essigsäuregemisch im Überschuß gegeben. Ausführung: Elektrophoresestreifen 15 min im Färbbad, dann 5–6mal je 20–40 min im Methylalkohol-Essigsäuregemisch spülen.

Die Lipoproteidfärbung führten wir nach SWAHN durch und die Glykoproteidfärbung nach SCHMID, PÄTZOLD und FINK.

Nach dem Vorgehen von BANSI u. Mitarb. legte man zur Berechnung und Gegenüberstellung der Glyko- und Lipoproteidfractionen nicht deren relatives prozentuales Verhältnis zugrunde, sondern Planimetereinheiten, die auf 0,1 cm³ der aufgetragenen Serummenge bezogen wurden.

Lediglich für das Verhalten der Albumine und der Globulinfractionen erfolgte die Angabe wie üblich in Relativitätsprozenten.

Da bei der elektrophoretischen Auftrennung des Kaninchenserums oft eine sichere Trennung der α - und β -Globulinfractionen untereinander nicht möglich war, mußte man jeweils die α_1 - und α_2 - bzw. die β_1 - und β_2 -Fractionen zusammen nehmen, wie es auch WUNDERLY empfahl.

Zusammen mit den Serumweißkörpern wurde die Bestimmung des Gesamt-Eiweißes nach KINGSLEY, FRANK u. KOECHER im Serum durchgeführt.

Die Blutentnahme zur Bestimmung der Albumine, der Globuline sowie der Glyko- und Lipoproteide erfolgte jeweils vor Beginn des Versuches und dann nach 4 und etwa 24 Std.

Nachdem die Wirkung des Reizstoffs Pyrexal auf die Temperatur, auf das weiße Blutbild sowie auf das Verhalten der Serumweißfractionen im Tierversuch geprüft war, sollte die Beeinflussung dieses Stoffes durch Eisen und reduzierende Substanzen untersucht werden. Es wurden daher je 1,5 mg Eisensulfat und Ferriehlorid sowie 6,25 mg Eisen- γ -oxydhydrat einer Lösung von 0,5 γ Pyrexal/1 ml Aqua dest. zugesetzt, während als weiteres Eisenpräparat Hämosiderin in einer Konzentration von 1,286 mg Fe-II-Ionen/2 cm³ Aqua dest. in einer Lösung von 0,5 γ Pyrexal/1 ml Aqua dest. gelöst wurde. Reduzierende Substanzen kamen in Form von Ascorbinsäure und Cystein zur Anwendung, wobei man einer Pyrexallösung von 0,5 γ /1 ml Aqua dest. jeweils 25 mg Ascorbinsäure und 12,5 mg Cystein zugab. Die entsprechenden Lösungen wurden 6 Std bei 37° inkubiert und dann den Kaninchen je kg Körpergewicht intravenös verabfolgt. Die Kontrolle der Temperatur sowie die Blutentnahme zur Untersuchung erfolgten nach den gleichen Zeitabständen und nach derselben Methode, wie sie oben für die Injektion von Pyrexal allein angegeben wurde.

Als weiteren Reizstoff verwandten wir Hu 27, ein anderes hochgereinigtes Lipopolysaccharid aus abortus equi-Keimen (Fa. Wander). Pro Kilogramm Körpergewicht wurden 0,5 γ Reizstoff, gelöst in 1 cm³ Aqua dest., den Kaninchen intravenös injiziert. Dabei untersuchte man die Veränderungen der Temperatur und die Reaktion des weißen Blutbildes vor der Injektion des Reizstoffes und dann in Abständen von 15 min,

1, 2, 4, 6 und etwa 24 Std, während das Verhalten der Serumproteine, der Glyko- und Lipoproteide sowie des Gesamteiweißes vor dem Versuch und nach 4 Std und etwa 24 Std kontrolliert wurde.

Wie in den Versuchen mit Pyrexal sollte auch bei Applikation des Reizstoffes Hu 27 eine Beeinflussung des Wirkungsmechanismus durch Zusatz von Eisen untersucht werden. Man gab daher 1,5 mg Eisensulfat zu einer Lösung von 0,5 γ Hu 27 pro 1 ml und injizierte diese den Kaninchen intravenös.

Bei einer weiteren Versuchsreihe mit diesem Lipopolysaccharidderivat Hu 27 entfernten wir alle freien Eisenionen aus der vorher im Tierversuch getesteten Reizstoff-Eisenlösung. Dies geschah durch Dialysieren gegen fließendes Aqua bidest. Nachdem mit α,α' -Dipyridyl keine freien Fe-II-Ionen in der Lösung mehr nachzuweisen waren, wurde diese 20 min bei 2500 U/min zentrifugiert. Das Sediment wurde in der dem Überstand entsprechenden Menge Aqua dest. unter vorsichtigem Schütteln gelöst. Im nun folgenden Tierversuch injizierten wir je 1,5 ml Überstand und gelöstes Sediment intravenös.

Nachdem die Reizstoff-Eisenlösung keine freien Fe-II-Ionen mehr enthielt, bestand das Ziel der folgenden Versuchsreihe darin, eine völlig eisenfreie Lösung zu injizieren und die erhaltenen Ergebnisse mit denjenigen nach alleiniger Reizstoffinjektion zu vergleichen. Daher wurde Sediment und Überstand mehrmals mit einer 5%igen Cysteinlösung versetzt. Durch erneutes Dialysieren entfernte man auf diese Weise auch das gebundene Eisen aus der Lösung. Es wurde so lange dialysiert, bis sowohl im Überstand als auch im Satz trotz Cysteinzusatz mit α,α' -Dipyridyl kein Eisen mehr nachzuweisen war. Je 1,5 ml eisenfreie Sedimentlösung und eisenfreier Überstand wurden dann intravenös injiziert.

In der nächsten Versuchsreihe setzten wir den beiden nunmehr eisenfreien Lösungen wieder Eisen-II-Sulfat zu, und zwar wurden je 2,25 mg Ferrosulfat/1,5 ml Überstand und 1,5 ml gelöstem Sediment zugegeben und pro Kilogramm Körpergewicht intravenös injiziert.

Die Hämosiderinfraction wurde nach WÖHLER aus Pferdemitzen in so schonender Weise gewonnen, daß die natürliche Struktur erhalten blieb. Da zum Zeitpunkt unserer Versuche aber doch der Eisenanteil des Hämosiderins durch Trocknen und längeres Lagern gealtert erschien und damit eine Mineralstruktur nicht ausgeschlossen werden konnte, ergab sich die Notwendigkeit einer Aufbereitung zur Gewinnung zweiwertiger Eisenionen aus Hämosiderin. So wurden 95 mg Hämosiderin in 19 cm³ einer 10%igen Ascorbinsäurelösung gelöst, wobei das pH der Lösung 4,0 betrug. Nach 15-stündigem Schütteln in einer Schüttelmaschine, welche mit 200 Ausschlägen von 1 cm³/min arbeitete, zentrifugierte man die erhaltene Lösung 15 min bei 2000 U/min. Anschließend wurde das Sediment vom Überstand getrennt und erneut mit 20 cm³ 10%iger Ascorbinsäure versetzt. Durch Zentrifugieren erhielt man wiederum ein Sediment, welches nach Trennung vom Überstand in der gleichen Weise verarbeitet wurde. Die bei diesem Vorgehen gewonnenen drei Überstände gab man zusammen und zerstörte in dieser Lösung durch 5 min langes Erwärmen in einem Wasserbad von 60° die Ascorbinsäure. Bei einem pH von 4,0 ergab die photometrische Bestimmung nach HEILMEYER und PLÖTNER einen Gehalt von 0,643 mg zweiwertigen Eisenionen/1 ml Lösung. (Eine eingehende Darstellung der Versuche und Tabellen der Einzelwerte finden sich in der Inaugural-Dissertation von H. BRUNSCHEDER, Universität Freiburg i. Br. 1961.)

Ergebnisse

Veränderungen des Blutbildes und der Leukocyten nach Injektion von Ce-Ferro, Ferrum vitis und Ku-II-Sulfatlösung. Zur Klärung der Frage, ob zwei- und dreiwertige Eisenionen schon allein charakteristische Veränderungen des weißen Blutbildes hervorrufen können, wurde Kaninchen ein zweiwertiges Eisenpräparat, Ce-Ferro sowie der dreiwertige Eisensaccharatkomplex Ferrum vitis intravenös verabfolgt. In diesem Zusammenhang erschien es auch wichtig, die Wirkung von Kupferionen zu untersuchen, welche in Form von pyrogenfreier Kupfer-II-Sulfatlösung intravenös injiziert wurden.

Da eine Differenzierung der Leukocyten beim Kaninchen nicht immer mit der nötigen Sicherheit

möglich ist, wurde nur das Verhältnis der Granulo-
cyten zu Lymphocyten berücksichtigt.

Es zeigte sich, daß die Injektion von zwei- und
dreiwertigen Eisenionen sowie von Kupferionen Ver-
änderungen im weißen Blutbild auslösen, die dadurch
gekennzeichnet sind, daß die Granuloeyten prozentual
ansteigen bei gleichzeitigem Absinken der Lympho-
cyten (Abb. 1). Offenbar waren diese Veränderungen

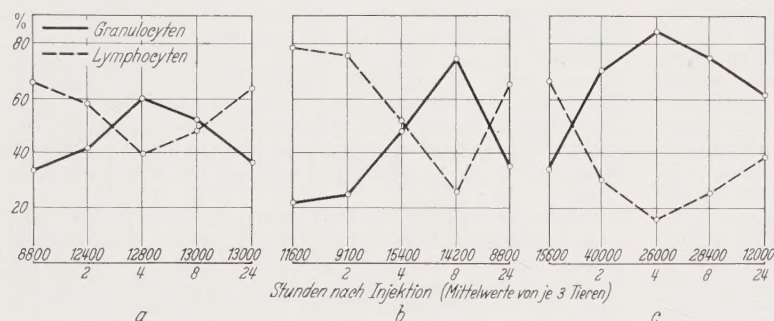


Abb. 1a—c. Veränderungen des Diff.-Blutbildes und der Leukocyten beim Kaninchen nach intravenöser Injektion von a) 10 mg Ferro-Ionen/kg i.v. (Ce-Ferro); b) 5 mg Fe-III-Ionen/kg i.v. (Ferrum vitis); c) 10 mg Kupfer-II-Sulfatlösung/kg i.v. (4 mg Kupfer-II-Ionen). Die Leukocytenzahl ist über der Abszisse eingetragen

abhängig von der Menge der zugeführten Ionen, da eine eindeutige Reaktion des weißen Blutbildes erst nach Applikation von 2,5 mg Ferroionen, 5 mg Fe-III-Ionen bzw. 4 mg Kupfer-II-Ionen nachzuweisen war.



Abb. 2. Beeinflussung der capillartoxischen Wirkung phenollöslicher Reizstoffe durch Hämosiderin. Links Reizstoffquaddeln, rechts daneben die gleiche Reizstoffquaddel bei Zusatz von Hämosiderin. Unten Kontrollquaddel mit physiologischer NaCl. Kaninchenbauch. (oben). 40 γ Reizstoff IV 40 γ Reizstoff VIII 40 γ Reizstoff IX 0,75 cm³ NaCl 0,9% (in der Mitte unten) 40 γ Reizstoff IV und 0,4 mg Hämosiderin-Fe⁺⁺ 40 γ Reizstoff VIII und 0,4 mg Hämosiderin-Fe⁺⁺ 40 γ Reizstoff IX und 0,4 mg Hämosiderin-Fe⁺⁺

Wie Abb. 1 deutlich werden läßt, waren die oben genannten Eisenpräparate und Kupfer-II-Sulfat außerdem in der Lage, beim Kaninchen eine Leukocytose auszulösen, wobei auch diese erst nach Applikation der oben angegebenen Dosen zu erzielen war.

Beeinflussung der capillartoxischen Wirkung von phenollöslichen Reizstoffen durch Eisenionen und reduzierende Substanzen. In den folgenden Versuchen sollte

geprüft werden, ob Eisenionen in der Lage sind, endogene Reizstoffe, die auf Grund des Wasser-Phenol-Verfahrens aus Patientenurin gewonnen worden waren, zu entgiften. Außerdem sollte eine mögliche Schutzwirkung von reduzierenden Substanzen näher untersucht werden.

Der Nachweis der durch die endogenen, phenollöslichen Reizstoffe bewirkten Permeabilitätssteigerung der Capillaren erfolgte nach MENKIN im Trypanblau-Test am Kaninchen.

Die Versuche zeigten, daß alle Reizstoffe eine mittlere bis starke Erhöhung der Capillarpermeabilität verursachten (s. Tabelle 1). Die Kontrollquaddeln mit physiologischer Kochsalzlösung färbten sich in keinem Falle.

Es ergab sich, daß durch Zusatz von Cystein, Ascorbinsäure und Eisen- γ -oxydhydrat zur Reizstofflösung die capillartoxische Wirkung der Reizstoffe nicht zu beeinflussen war. Die Blaufärbung der Quaddeln hatte trotz Zusatz der genannten Verbindungen etwa die gleiche Intensität wie bei der entsprechenden Reizstoffquaddel. Wurden Cystein, Ascorbinsäure und Eisen- γ -oxydhydrat ohne Reizstoff injiziert, so trat bei Fe- γ -oxydhydrat keine Blaufärbung ein. Die Cystein- und Ascorbinsäurequaddeln färbten sich eben sichtbar an, was wohl auf eine Capillarschädigung infolge des sauren pH von 1,5 bzw. 3,0 zurückzuführen ist, wobei aber die Zeit bis zum Auftreten einer Blaufärbung bedeutend länger und die Intensität wesentlich schwächer war als bei Reizstoffzusatz.

Demgegenüber gelang es, durch Zusatz von Hämosiderin-Eisen die capillartoxische Wirkung der phenollöslichen Reizstoffe aufzuheben. Abb. 2 läßt erkennen, daß die Hämosiderin-Reizstoffquaddeln sich nicht blau, sondern gering bräunlich verfärbten, während die entsprechenden Reizstoffquaddeln deutlich blau getönt waren.

Wurde Ferrosulfat der Reizstofflösung zugesetzt, so ließ sich ebenfalls eine Permeabilitätssteigerung der Capillaren unterdrücken, was im Zusammenhang mit den vorhergehenden Versuchen deutlich werden läßt, daß zur Erzielung dieses Effektes freie Fe-II-Ionen von entscheidender Bedeutung sind.

Die neben den einzelnen Quaddeln angegebenen Dosen wurden jeweils in 0,75 cm³ 0,9%iger NaCl gelöst.

Bei Applikation von Reizstoff und Fe-III-Ionen (Ferrichlorid) färbten sich die Quaddeln nicht gleichmäßig blau, es bildete sich vielmehr ein blauer Ring um einen zentralen gelb-braunen Hof. Die capillartoxische Wirkung des Reizstoffs kam also nur in der Peripherie der Quaddeln zur Geltung.

Wurden Hämosiderin, Ferrosulfat oder Ferrichlorid ohne Reizstoff injiziert, so trat keine Färbung der Quaddeln ein (s. Tabelle 1).

Verhalten der Temperatur und der Leukocytenwerte nach intravenöser Injektion eines bakteriellen Lipopolysaccharids (Pyrexal) sowie von Eisenpräparaten und reduzierenden Substanzen. Nachdem auf Grund des Trypanblau-Testes am Kaninchen eine Entgiftung endogener, phenollöslicher Reizstoffe durch Fe-II-

Ionen wahrscheinlich gemacht werden konnte, sollte jetzt untersucht werden, ob Eisenionen in der Lage sind, auch exogene, bakterielle Reizstoffe zu entgiften. Als solches kam das Lipopolysaccharidderivat Pyrexal zur Anwendung.

Wie Abb. 3 deutlich werden läßt, kam es nach der Injektion des bakteriellen Reizstoffes Pyrexal zu einem Temperaturanstieg von 1,2°, während nach Ferrosulfat eine geringe Senkung der Temperatur erzielt werden konnte.

Ein bedeutsames Ergebnis war nun, daß unter Zusatz von Eisen eine Temperaturerhöhung ausblieb. Wurde Hämosiderin, Ferrosulfat oder Ferrichlorid der Reizstofflösung zugesetzt, so konnte die pyrogene Wirkung des Lipopolysaccharids unterdrückt werden.

Demgegenüber zeigten Eisen-γ-oxydhydrat, Cystein und Ascorbinsäure keine Schutzwirkung. Die trotz Zusatz dieser Verbindungen zur Reizstofflösung bis um 2° erhöhten Temperaturen klangen erst im Verlauf von 24 Std wieder ab.

Das Verhalten der Leukocyten zeigte ähnliche Ergebnisse. Auch hier konnte durch Zusatz von Hämosiderin-Eisen, Ferrosulfat oder Ferrichlorid die reizstoffinduzierte Leukopenie unterdrückt werden, während reduzierende Substanzen und Eisen-γ-oxydhydrat keine Beeinflussung der durch den Reizstoff hervorgerufenen Leukopenie erkennen ließen.

Zu beachten ist, daß dreiwertige Eisenionen des Ferrichlorid durch das Lipopolysaccharid (Pyrexal) zu Fe-II-Ionen reduziert werden, wie dies der rote Farbumschlag nach Zugabe von 1%iger o-Phenanthrolin-HCl-Lösung zeigt, wobei diese Wirkung durch den Gehalt an reduzierenden Zuckern erklärt werden kann.

Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse läßt sich also sagen, daß durch die Applikation von freien zweiwertigen Eisenionen im Überschuß die durch Pyrexal hervorgerufenen charakteristischen Veränderungen der Temperatur und des weißen Blutbildes unterdrückt werden können, während reduzierende Substanzen und Eisen-γ-oxydhydrat keine Schutzwirkung zeigen.

Verhalten der Temperatur und der Leukocyten nach intravenöser Injektion eines bakteriellen Lipopolysaccharids (Hu 27) und Ferrosulfatlösungen. Nachdem auf Grund der bisher erhaltenen Ergebnisse eine Entgiftung des bakteriellen Reizstoffes Pyrexal durch zweiwertige Eisenionen wahrscheinlich gemacht werden konnte, sollte in den folgenden Versuchen die mögliche Entgiftung eines weiteren bakteriellen Lipopolysaccharids verfolgt werden. Als solches stand ein hochgereinigtes Lipopolysaccharidderivat aus abortus equi-Keimen zur Verfügung (Firmenbezeichnung H 27, Forschungsinstitut der Firma Wander).

Die Versuche ergaben, daß — analog der Wirkung des Lipopolysaccharids Pyrexal — auch nach Applikation des bakteriellen Reizstoffes Hu 27 Fieber und eine Leukopenie ausgelöst werden konnten, wie dies in Abb. 4 zum Ausdruck kommt.

Auch konnte die in den Versuchen mit Pyrexal wahrscheinlich gemachte Entgiftung dieses Reizstoffes durch freie zweiwertige Eisenionen bestätigt werden, indem es gelang, durch Zusatz von Ferrosulfat die pyrogene und leukopenische Wirkung des Reizstoffes Hu 27 zu unterdrücken.

Tabelle 1. Ergebnisse des Trypanblau-Testes (Prüfung der Capillarpermeabilität)

Reizstoff Nr.	Grad der Färbung	Zeit bis zur Entwicklung min	Grad der Färbung	Zeit bis zur Entwicklung min	Grad der Färbung	Zeit bis zur Entwicklung min	Grad der Färbung	Zeit bis zur Entwicklung min	Grad der Färbung	Zeit bis zur Entwicklung min	Grad der Färbung	Zeit bis zur Entwicklung min
1	0,4 cm ³ NaCl 0,9% i.c., pH = 6,2	0	+	10	10 mg Cystein i.c., pH = 1,5	+	30	20 mg Ascorbinsäure i.c., pH = 3,0	+	30	5 mg Fe-γ-oxydhydrat i.c., pH = 5,1	0
2	40 γ/0,4 cm ³ phys. NaCl i.c., pH = 5,1	+	+	15	40 γ Reizstoff + 10 mg Cystein i.c., pH = 1,5	+	4	40 γ Reizstoff + 20 mg Ascorbinsäure i.c., pH = 3,0	+	4	40 γ Reizstoff + 5 mg Fe-γ-oxydhydrat i.c., pH = 5,1	+
3		+	+	4		+	4		+	4		+
4		+	+	5		+	5		+	5		+
5		+	+	3		+	3		+	3		+
6		+	+	5		+	5		+	5		+
7		+	+	2		+	2		+	2		+
8		+	+	2		+	2		+	2		+
9		+	+	8		+	8		+	8		+
10		+	+	5		+	5		+	5		+

(+) = periphere Blaufärbung um die Injektionsstelle bei nicht gefärbtem zentralen Hof; + = gerade sichtbare Verfärbung (geringe Capillarwirkung); ++ = mittlere Blaufärbung (mittlere Capillarwirkung); +++ = starkes Dunkelblau (starke Capillarwirkung).

Wurden dagegen durch längeres Dialysieren aus der Reizstoff-Eisenlösung alle freien Eisenionen entfernt, so ergeben sich ähnliche Verhältnisse wie nach der Injektion von Reizstoff allein, d. h. die Versuchstiere bekamen Fieber und zeigten verminderte Leukocytenwerte im Blut (Abb. 4). Das Verhalten der Leukocyten wies insofern Besonderheiten auf, als eine ausgeprägte Leukopenie nur nach Injektion von gegelöstem Sediment auftrat, während bei Applikation von Überstand die Zahlen der Leukocyten innerhalb der physiologischen Schwankungsbreite lagen. Es er-

Sinne einer Entgiftung wieder unterdrückt werden konnte.

Abb. 4 läßt erkennen, daß es durch Zusatz von freien zweiwertigen Eisenionen zu einer wirkungsstarken eisenfreien Reizstofflösung wiederum gelang, eine Temperatursteigerung und eine Leukopenie zu unterdrücken.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß eine Schutzwirkung des Eisens gegenüber oxogenen, bakteriellen Reizstoffen nur dann erzielt werden kann, wenn freie zweiwertige Eisenionen im Überschuß der

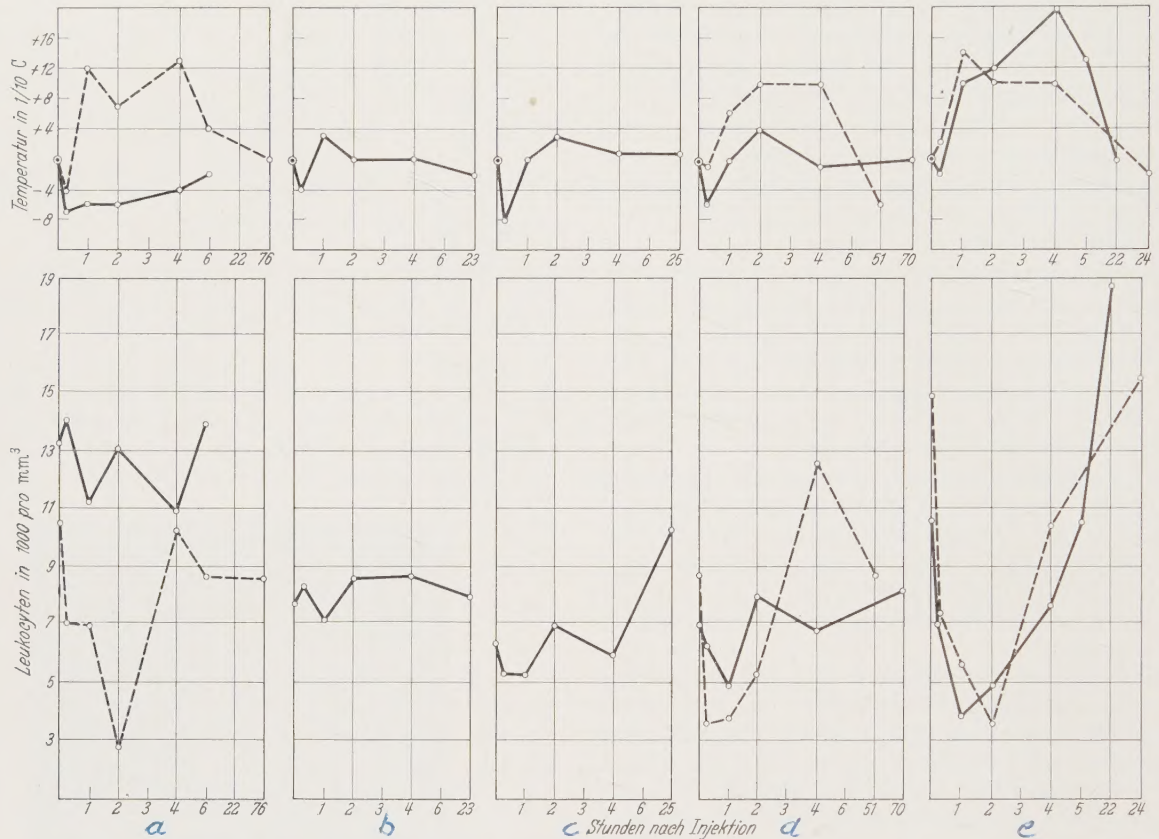


Abb. 3. Verhalten der Temperatur und der Leukocytenwerte nach intravenöser Injektion eines bakteriellen Lipopolysaccharids (Pyrexal) von Ferrosulfat-, Ferrichlorid-, Hämosiderin-, Cystein-, Ascorbinsäure- und Eisen- γ -oxydhydrat-Lösungen beim Kaninchen. — 0,5 γ Pyrexal/kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 1,5 mg FeSO_4 /kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 1,286 mg Hämosiderineisen/kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 12,4 mg Cystein/kg i.v.; — 0,1 γ Pyrexal und 25 mg Ascorbinsäure/kg i.v.; — 1,5 mg FeSO_4 /kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 1,5 mg FeCl_3 /kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 6,25 mg $\text{Fe } \gamma$ -oxydhydrat/kg i.v.

schien daher denkbar, daß nach der Zentrifugation der Überstand keine leukopenische Komponente mehr enthielt.

Es wurde nun die im Vorversuch applizierte Reizstoff-Eisenlösung, aus welcher durch Dialyse alle freien Eisenionen entfernt worden waren, durch Cysteinzusatz und erneutem Dialysieren völlig eisenfrei gemacht, um so ein der reinen Reizstofflösung möglichst ähnliches Reagens zu erhalten. Es gelang, durch eine Temperaturerhöhung und durch das Auftreten einer Leukopenie die unbeeinflusste Wirkung des Reizstoffs Hu 27 zu demonstrieren, wobei auch in diesen Versuchen eine Leukopenie nur nach Injektion der Sedimentlösung auftrat.

Nachdem es gelungen war, durch Enteisenung der in dem vorhergehenden Versuch verfolgten Reizstoff-Eisenlösung ein Reagens zu erhalten, was sich nicht wesentlich von der reinen Reizstofflösung unterschied, sollte nun durch erneuten Zusatz von Eisen geprüft werden, ob die Wirkung des Reizstoffs im

Reizstofflösung zugegeben werden. Wurden diese Eisenionen durch Dialyse entfernt, so ließ sich durch das noch an den Reizstoff gebundene Eisen keine Beeinflussung der pyrogenen und leukopenischen Wirkung des Reizstoffes nachweisen.

Verhalten der Glykoproteide und der Lipoproteide nach intravenöser Injektion eines bakteriellen Lipopolysaccharids (Pyrexal) sowie von Eisenpräparaten und reduzierenden Substanzen. Auf die Bedeutung der Glykoproteide beim entzündlichen Geschehen wurde schon früher von BERGSTERMANN, SEIBERT u. STARY hingewiesen. Die genannten Autoren konnten nachweisen, daß die Vermehrung der Gesamt-Glykoproteide, insbesondere aber der Mucopolysaccharide, bei Entzündungen und Infektionskrankheiten der Bösartigkeit des Prozesses parallel lief. Andererseits wies SCHRADER auf die Beeinflussung der Lipide des Blutes durch Pyrufer hin. WÖHLER u. GHIASSI konnten dann in ausgedehnten experimentellen Studien nachweisen, daß die Glyko- und Lipoproteide durch Diphtherie-

toxin, bakteriellen Reizstoff (Pyrexal) und ACTH zunächst absanken, um im Verlauf von einigen Tagen ihren Ausgangswert weit zu überschreiten.

Es erscheint daher von Bedeutung, das Verhalten dieser beiden Proteide unter einem bakteriellen Reizstoff zu verfolgen und zu untersuchen, ob durch den Zusatz von Eisenionen oder reduzierenden Substanzen eine Beeinflussung dieses Verhaltens möglich ist.

Aus der Abb. 5 geht hervor, daß sowohl nach Pyrexal allein, als auch bei Zusatz von Cystein, Ascorbinsäure oder Eisen- γ -oxydhydrat die Glyko- und Lipoproteide zunächst absinken, um im weiteren Verlauf des Versuches wieder anzusteigen, wobei teilweise der Ausgangswert überschritten wird. Es gelang also nicht, die durch das Lipopolysaccharid Pyrexal hervorgerufenen Veränderungen der beiden Proteide durch Zusatz von reduzierenden Substanzen oder Eisen- γ -oxydhydrat zu modifizieren.

Anders lagen die Verhältnisse nach Zusatz von Eisenionen. Es ließ sich nachweisen, daß unter Ferrosulfat Hämosiderineisen oder Ferrichlorid jeweils eine der beiden Proteidfraktionen 4 Std nach der Injektion um über 100% angestiegen war. Bei Zusatz von Hämosiderineisen

Das gleiche Verhalten sowohl der Glyko- und Lipoproteide als auch der α - und β -Globuline läßt sich durch die Tatsache erklären, daß die beiden Serumproteinfraktionen Träger der eiweißgebundenen Kohlenhydrate und der Blutlipide sind (BERGSTERMANN).

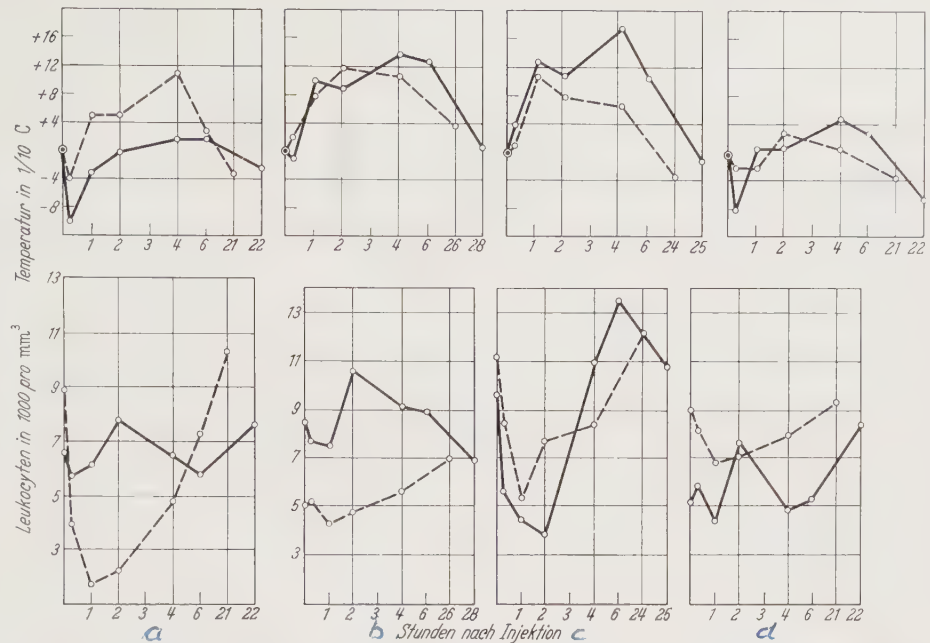


Abb. 4. Verhalten der Temperatur und der Leukozytenwerte nach intravenöser Injektion von bakteriellem Lipopolysaccharid (Hu 27) und Eisenlösungen. I. — 0,5 γ Hu 27/kg i.v.; II. — 0,5 γ Hu 27 und 1,5 mg FeSO_4 /kg i.v.; III. — 1,5 ml Überstand/kg i.v.; a — Reizstoff-Eisenlösung nach Entfernung freier Eisenionen; b — eisenfreie Reizstofflösung; IV. — 1,5 ml Sedimentlösung/kg i.v.; a — Reizstoff-Eisenlösung nach Entfernung freier Eisenionen; b — eisenfreie Reizstofflösung; V. — 1,5 ml eisenfreier Überstand und 2,25 mg FeSO_4 /kg i.v.; VI. — 1,5 ml eisenfreie Sedimentlösung und 2,25 mg FeSO_4 /kg i.v.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß durch freie zweiwertige Eisenionen, die unter dem bakteriellen Reizstoff (Pyrexal) auftretende charakteristische initiale Verminderung der Glyko- und Lipoproteide nicht

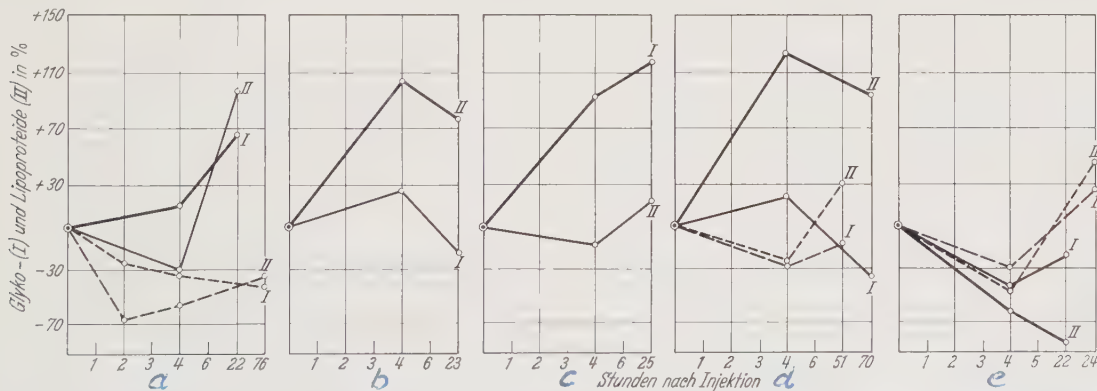


Abb. 5. Verhalten der Glykoproteide (I) und Lipoproteide (II) nach intravenöser Injektion eines bakteriellen Lipopolysaccharids (Pyrexal), von Ferrosulfat, Ferrichlorid, Hämosiderin, Cystein, Ascorbinsäure- und Eisen- γ -oxydhydratlösung beim Kaninchen. — 0,5 γ Pyrexal/kg i.v., — 1,5 mg FeSO_4 /kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 1,5 mg FeSO_4 /kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 1,286 mg Hämosiderineisen/kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 12,5 mg Cystein/kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 1,5 mg FeCl_3 /kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 25 mg Ascorbinsäure/kg i.v.; — 0,5 γ Pyrexal und 6,25 mg Eisen- γ -oxydhydrat/kg i.v.

ließ sich sogar noch nach 25 Std ein Ansteigen der Glykoproteide nachweisen.

Gleichzeitig bestand eine Vermehrung aller Globuline, insbesondere aber der α - und β -Globuline um 100% bzw. 75% nach Zusatz von Ferrosulfat. Das gleichzeitige Absinken der Albumine macht eine Verschiebung des Albumin-Globulin-Quotienten zugunsten der Globuline deutlich. (Auf diese Befunde wird an anderer Stelle eingegangen.)

nur verhindert wird, sondern daß bei Zusatz von Eisenionen beide Proteidfraktionen schon kurze Zeit nach der Injektion des Reizstoffes einen Anstieg im Serum aufweisen.

Verhalten der Glyko- und Lipoproteidfraktionen nach intravenöser Injektion von bakteriellem Lipopolysaccharid (Hu 27) und Ferrosulfatlösungen. Wie es nach den Versuchen mit dem Reizstoff Pyrexal zu erwarten war, lagen auch nach Zusatz von Ferrosulfat zu dem

Reizstoff Hu 27 die Werte der Glyko- und Lipoproteide höher als nach der Injektion des Lipopolysaccharids allein (Abb. 6). Es ließ sich allerdings trotz Eisenzusatz ein anfängliches Absinken beider Proteidfraktionen nicht verhindern, so daß im ganzen die Veränderungen beider Proteide zwar nicht so ausgeprägt waren, aber doch einen ähnlichen Charakter hatten wie nach der Verabfolgung des Lipopolysaccharids Pyrexal in Kombination mit Eisenionen.

Entfernte man durch längeres Dialysieren und anschließende Zentrifugation alle freien Eisenionen aus der Reizstoff-Eisenlösung, so wiesen die Glyko- und Lipoproteide nach einem initialen Absinken eine stärkere Zunahme im Serum auf. Ob für diesen Effekt das noch an den Reizstoff gebundene Eisen verant-

β -Globuline eine Verschiebung des Albumin-Globulin-Quotienten zugunsten der Globuline, während bei Applikation von Überstand die Albumine noch nach 21 Std erhöhte Werte aufwiesen.

Wie aus den Versuchen hervorgeht, gelang es, durch Zusatz von zweiwertigen Eisenionen auch die Wirkung des Reizstoffes Hu 27 auf die Glyko- und Lipoproteide zu beeinflussen, wobei dieser Effekt allerdings nicht bei allen Versuchstieren in dem gleich starken Maße erfolgte wie nach der Injektion des Reizstoffes Pyrexal zusammen mit Eisen.

Diskussion

Wie bereits durch die Untersuchungen von HEILMEYER und WÖHLER bekannt ist, lassen tierexperimentelle Studien erkennen, daß Hämosiderin und Ferrosulfat in der Lage sind, Toxine zu entgiften, wobei nachgewiesen werden konnte, daß diese Wirkung an das Vorhandensein freier zweiwertiger Eisenionen gebunden ist.

Daß Eisen allein schon bestimmte Veränderungen hervorrufen kann, dürfte wohl aus den Versuchen mit Ce-Ferro und Ferrum vitis hervorgehen. Dabei kam es nach Verabreichung dieser Präparate in steigender Dosierung zu einer Leukocytose bei gleichzeitigem prozentualen Ansteigen der Granulocyten

im weißen Blutbild. Es ließ sich zeigen, daß dieser Effekt nicht nur für Eisen charakteristisch ist, da mit Kupfer ähnliche Ergebnisse erzielt werden konnten. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, daß es sich hierbei um eine unspezifische Reizantwort des Organismus handelt.

Zur Prüfung der Entgiftungsfunktion von Hämosiderineisen und Ferrosulfat untersuchte man zunächst den Einfluß dieser Stoffe auf die capillartoxische Wirkung von endogenen, phenollöslichen Reizstoffen im Trypanblau-Test nach MENKIN. Die Ergebnisse dieses Testes lassen den wichtigen Schluß zu, daß die nach Applikation von endogenen Reizstoffen beobachtete Permeabilitätssteigerung der Capillaren (SPECTOR; SCHUMACHER, PROBST u. MÜLLER; REHN u. SZCZEPONIK) durch Zusatz zweiwertiger Eisenionen zum Reizstoff aufgehoben werden kann. Dabei ließ sich zeigen, daß Fe-III-Ionen demgegenüber nur imstande sind, diese Wirkung einzuschränken, während bei reduzierenden Substanzen (Ascorbinsäure und Cystein) sowie Eisen- γ -oxydhydrat kein Einfluß auf die capillartoxische Wirkung der Reizstoffe nachgewiesen werden konnte.

In weiteren Versuchen wurde die Entgiftung von exogenen bakteriellen Reizstoffen untersucht, von denen durch die Untersuchungen von KEIDERLING, WESTPHAL u. LÜDERITZ; KEIDERLING, WÖHLER u. WESTPHAL bekannt ist, daß sie Fieber und charakteristische Veränderungen im weißen Blutbild auslösen sowie eine Aktivierung des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems bewirken.

Die aufgeführten Tierversuche lassen erkennen, daß die durch bakterielle Lipopolysaccharide ausgelöste

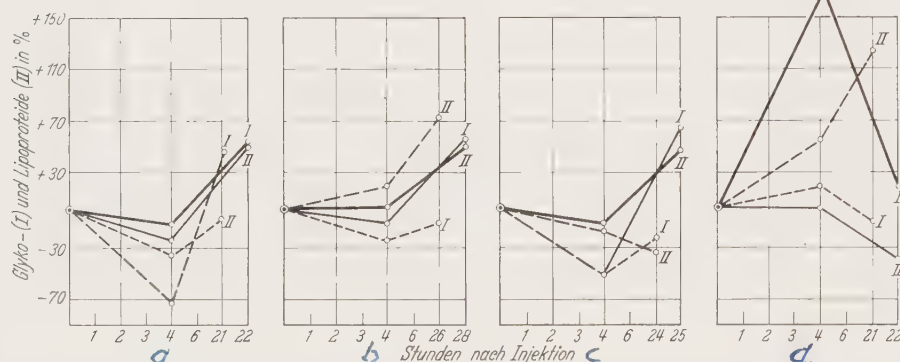


Abb. 6. Verhalten der Glykoproteide (I) und der Lipoproteide (II) nach intravenöser Injektion von bakteriellem Lipopolysaccharid (Hu 27) und Eisenlösungen. — 0,5 γ Hu 27/kg i.v., 0,5 γ Hu 27 und 1,5 mg FeSO_4 /kg i.v.; — Reizstoff-Eisenlösung nach Entfernung freier Eisenionen, — eisenfreie Reizstofflösung; — Reizstoff-Eisenlösung nach Entfernung freier Eisenionen, — eisenfreie Reizstofflösung; — 1,5 ml eisenfreier Überstand und 2,25 mg FeSO_4 /kg i.v., — 1,5 ml eisenfreie Sedimentlösung und 2,25 mg FeSO_4 /kg i.v.

wortlich zu machen ist, läßt sich auf Grund der vorliegenden Versuche nicht mit der nötigen Sicherheit entscheiden. Das Ansteigen aller Globuline nach Injektion der Sedimentlösung, die keine freien Eisenionen mehr enthielt, macht es allerdings wahrscheinlich, daß die Wirkung des Reizstoffes Hu 27 auf die Serumproteine auch durch das an den Reizstoff gebundene Eisen beeinflusst werden könnte.

Dagegen hatten beide Proteide nach Verabfolgung einer völlig eisenfreien Reizstofflösung, wie sie nach Zusatz von Cystein und erneuter Dialyse hergestellt wurde, nach 28 bzw. 25 Std ihren Ausgangswert noch nicht erreicht, was die unbeeinflusste Wirkung des Lipopolysaccharids Hu 27 deutlich werden läßt. Ungeklärt bleibt die Vermehrung der Lipoproteide nach Applikation von eisenfreiem Überstand.

In dem folgenden Versuch sollte der nunmehr eisenfreien Reizstofflösung wieder Ferrosulfat zugefügt werden, um zu klären, ob die Veränderungen der Glyko- und Lipoproteide, die nach Injektion dieser eisenfreien Reizstofflösung erzielt werden konnten, durch zweiwertige Eisenionen zu modifizieren sind.

Wie Abb. 6 erkennen läßt, kam es zu einer starken Vermehrung der Glykoproteide, nämlich um 170% nach Applikation von gelöstem Sediment, und der Lipoproteide um 123% nach Verabfolgung von Überstand. Auffallend war, daß diese Veränderungen ausgeprägter waren als nach Injektion des reinen Lipopolysaccharidderivates Hu 27 bei Zusatz von Eisen (vgl. auch Abb. 6, erstes Bild). Nach Injektion von gelöstem Sediment fand sich auf Grund einer Abnahme der Albumine bei gleichzeitigem Ansteigen der α - und

Fieberreaktion sowie die reizstoffinduzierte Leukopenie durch vorausgehenden Zusatz zweiwertiger Eisenionen aufgehoben werden können. Ferrichlorid zeigte ebenfalls eine Schutzwirkung, wobei aber wohl nicht die Fe-III-Ionen für diesen Effekt verantwortlich sind, da nachgewiesen werden konnte, daß die dreiwertigen Eisenionen des Ferrichlorid durch den Polysaccharidanteil des Reizstoffes Pyrexal zu Fe-II-Ionen reduziert werden. Wie aus den Versuchen weiterhin hervorgeht wird eine Schutzwirkung nur dann erzielt, wenn freie zweiwertige Eisenionen in einer bestimmten minimalen Konzentration vorhanden sind. So wird bei einem Verhältnis von Reizstoff zu Fe-II-Ionen von 1:1000 die Wirkung des Reizstoffes sicher unterdrückt. Im Gegensatz hierzu ergab die Prüfung der reduzierenden Substanzen Cystein und Ascorbinsäure sowie von Eisen- γ -oxydhydrat keine Beeinflussung der durch Lipopolysaccharidderivate hervorgerufenen Wirkungen.

In früheren Versuchen von BERGSTERMANN, SEIBERT u. STARY konnte nachgewiesen werden, daß die Gesamt-Glykoproteide, insbesondere aber die Mucopolysaccharide bei Entzündungen und Infektionskrankheiten eine starke Zunahme im Serum erfahren. Dabei konnten die genannten Autoren zeigen, daß die Vermehrung der Glykoproteide bzw. Mucopolysaccharide der Bösartigkeit der Prozesse parallel lief. Weiterhin konnte SCHRÄDE in experimentellen Untersuchungen mit Pyrufer zeigen, daß auch die Lipide des Blutes nach einer vorhergehenden Abnahme einen Anstieg aufwiesen. WÖHLER und GHIASSI gelang es dann, in ausgedehnten, tierexperimentellen Studien zu klären, daß durch Diphtherietoxin, bakteriellen Reizstoff (Pyrexal) und ACTH die Glyko- und Lipoproteide nach einem anfänglichen Absinken im Verlauf von 6 Tagen eine Zunahme im Serum erfahren.

Diese Ergebnisse ließen sich durch die aufgeführten Versuche bestätigen. So kommt es unter einem entzündlichen Reiz zunächst zu einer Verminderung der Glykoproteide und Lipoproteide, wobei im weiteren Verlauf des Versuchs die beiden Proteide sich wieder ihrem Ausgangswert nähern und diesen überschreiten können.

Ein bedeutsames Ergebnis war nun, daß unter Eisenzusatz diese Verminderung ausblieb. Durch Zusatz von Hämosiderineisen, Ferrosulfat oder Ferrichlorid zur Reizstofflösung gelang es, ein sofortiges Ansteigen der Glyko- und Lipoproteide sowie der entsprechenden Globulinfractionen im Serum zu erzielen. Dabei ließ sich klären, daß das einer Reizstofflösung zugesetzte Eisen entsprechend seiner Menge zum größten Teil in freier Ionenform in Lösung bleibt, zum Teil aber an den Reizstoff gebunden wird. Dieser Tatsache kommt eine besondere Bedeutung zu, da nachgewiesen werden konnte, daß die Unterdrückung der pyrogenen und leukopenischen Wirkung der Lipopolysaccharidfraktionen offenbar nicht nur durch das an den Reizstoff gebundene Eisen gelingt, sondern daß hierfür freie zweiwertige Eisenionen erforderlich sind, wobei der genaue Wirkungsmechanismus dieser freien Fe-Ionen offenbleiben muß.

Zusammenfassung. Nach Gabe von Ce-Ferro, Ferrum vitis und Cuprisulfat kommt es beim Kaninchen zu Veränderungen im weißen Blutbild, die durch eine Leukocytose bei gleichzeitigem prozentualen Ansteigen der Granulocyten gekennzeichnet sind.

Die weiteren Untersuchungen zeigten, daß die capillartoxische Wirkung endogener, phenollösllicher Reizstoffe durch zweiwertige Eisenionen zum Reizstoff zugesetzt, unterdrückt werden kann, während bei Zusatz von Eisen- γ -oxydhydrat und reduzierenden Substanzen keine Beeinflussung dieser Wirkung nachzuweisen war.

In Modellversuchen wurde bestätigt, daß zweiwertige Eisenionen im Überschuß in der Lage sind, auch exogene, bakterielle Reizstoffe vollkommen zu entgiften.

Die nach Verabfolgung von bakteriellen Lipopolysacchariden auftretenden Veränderungen der Temperatur und des weißen Blutbildes ließen sich durch gleichzeitige Gabe von Hämosiderin oder Ferrosulfat unterdrücken. Zweiwertige Eisenionen sind weiterhin in der Lage, die nach Injektion von bakteriellen Reizstoffen nachzuweisenden Veränderungen der Serum-eiweißfraktionen zu beeinflussen. Nach Gabe von Eisen- γ -oxydhydrat oder reduzierenden Substanzen war eine Entgiftung der bakteriellen Reizstoffe nicht nachzuweisen.

Literatur. BANSI, H. W., u. TH. GRONOW: Klin. Wschr. 33, 102 (1955). — BERGSTERMANN, H.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 58, 382 (1952); — Ärztl. Forsch. 8, 377 (1954); — Ergebn. inn. Med. Kinderheilk., N.F. 7 (1956). — DUBACH, R., S. CALLENDER und C. V. MOORE: Blood 3, 526 (1948). — GRASSMANN, W., u. K. HANNIG: Dtsch. med. Wschr. 76, 33 (1951). — HEILMEYER, L.: Die Eisentherapie und ihre Grundlagen. Leipzig: S. Hirzel 1944; — Mkurse ärztl. Fortbild. Nr 12 (1956). — HEILMEYER, L., W. KEIDERLING u. G. STÜWE: Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe. Jena: Gustav Fischer 1941. — HEILMEYER, L., W. KEIDERLING u. F. WÖHLER: Dtsch. med. Wschr. 83, 1965 (1958). — HEILMEYER, L., u. K. PLÖTNER: Das Serumeisen und die Eisenmangelkrankheit. Jena: Gustav Fischer 1937. — HEILMEYER, L., u. F. WÖHLER: Klin. Wschr. 37, 785 (1959); 39, 563 (1961); — Dtsch. med. Wschr. (1961, im Druck). — HEILMEYER, L., F. WÖHLER u. W. RUSCHE: Münch. med. Wschr. 101, 2001 (1959). — HEMMELER, G.: Schweiz. med. Wschr. 1939, 316. — HOFF, F.: Fieber, unspezifische Abwehrvorgänge, unspezifische Therapie. Stuttgart: Georg Thieme 1957. — KEIDERLING, W., H. A. E. SCHMIDT, M. LEE u. K. TH. FRANK: Untersuchungen über die Infektanämie mit Radioeisen und Radiochrom. 5. Europ. Hämatologen-Kongr. 1955. — KEIDERLING, W., u. O. WESTPHAL: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 57, 66 (1951). — KEIDERLING, W., F. WÖHLER u. O. WESTPHAL: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 217, 293 (1953). — KICKHÖFEN, B.: Persönliche Mitteilung (Dr. Wander, Forschungsinstitut, Freiburg i. Br.). — LAURELL, C. B.: Acta physiol. scand. 14, Suppl., 46 (1947). — LOCKE, A., E. R. MAINE und D. O. ROSSBACH: J. clin. Invest. 11, 527 (1935). — LÜDERITZ, O., u. O. WESTPHAL: Z. Naturforsch. 7b, 546 (1952). — MENKIN, V.: Newer concepts of inflammation, III. Springfield: Ch. C. Thomas 1950; — Int. Arch. Allergy 4, 131 (1954); — J. exp. Med. 53, 647 (1941); — Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 80, 223 (1952). — PROBST, V., G. SCHUMACHER u. E. MÜLLER: Medizinische 1, 38 (1958). — REHN, J.: Klin. Wschr. 37, 204 (1959). — SCHÄFER, K. H., u. A. BREYER: Klin. Wschr. 34, 54 (1956). — SCHMID, J., E. PÄTZOLD u. R. FINK: Wien. Z. inn. Med. 36, 12 (1955). — SCHRÄDE, W.: Z. klin. exp. Med. 110, 623 (1942); — Dtsch. med. Wschr. 81, 617 (1957). — SCHUMACHER, G.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 62, 347 (1956). — SCHWIETZER, C. H.: Dtsch. med. Wschr. 77, 17 (1952). — SEIBERT, F. B., M. V. A. SEIBERT, A. J. ATNO und H. W. CAMPBELL: J. clin. Invest. 26, 90 (1947). — SPECTOR, W. G.: J. Path. Bact. 63, 93 (1951). — STARY, Z.: Fortschr. Med. 71, 517 (1953). — SWAHN, B.: Scand. J. clin. Lab. Invest. 5, Suppl. 9 (1953). — SZCZEPONIK, N.: Die postoperative Ausscheidung von „Reizkörpern“ im Urin und ihre vergleichende Testung im Tierexperiment. Inaug.-Diss. Freiburg i. Br. 1958. — THOENES, F.: Abh. Kinderheilk. 103, 35 (1935). — TONUTTI, E.: Klin. Wschr. 27, 569 (1949). — VAHLQUIST, B. C.: Acta paediat. (Uppsala) 28, Suppl. 5, 1 (1941). — WALLBACH, G.: Ergebn. allg. Path. path. Anat. 92, 24 (1931). — WESTPHAL, O., O. LÜDERITZ, E. EICHENBERGER

u. W. KEIDERLING: Z. Naturforsch. **7b**, 534 (1952). — WESTPHAL, O., O. LÜDERITZ, B. KICKHÖFEN, E. EICHENBERGER and W. KEIDERLING: Rev. canad. Biol. **12**, 289 (1949). — WÖHLER, F.: Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen über die Stimulierung des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems durch bakterielle Reizstoffe. Inaug.-Diss. Freiburg i. Br., 1954; — Ferritin und Hämosiderin unter pathologischen Bedingungen. Eisenstoffwechsel. Stuttgart: Georg Thieme 1959; — Acta haemat. (Basel) **23**, 342 (1960). — WÖHLER, F.,

u. K. GHIASSI: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **230**, 161 (1957). — WÖHLER, F., u. M. KÖRTE: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **230**, 502 (1957). — WUNDERLY, CH., W. BOLLEY, F. WUNDERMANN u. S. PILLER: Klin. Wschr. **32**, 425 (1954).

Anschrift des Verfassers: Dr. H. BRUNSCHEDE,
Medizinische Universitätsklinik, Freiburg i. Br.,
Hugstetter Str. 55

Lebenslauf

Am 18. 11. 35 wurde ich, HORST BRUNSCHEDE, als Sohn des Regierungsinspektors MAX BRUNSCHEDE und seiner Ehefrau BETTY, geb. STEINHOFF, in Oldenburg i. O. geboren. Nach einem dreijährigen Volksschulbesuch bestand ich im Jahre 1955 am humanistischen Gymnasium in Düsseldorf-Benrath die Reifeprüfung. Mein Medizinstudium begann ich im Mai 1955 an der Universität in Marburg und legte auch dort im Herbst 1957 das Physikum ab. Seit November 1958 studiere ich an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg i. Br. und beabsichtige, hier im Frühjahr 1961 das medizinische Staatsexamen abzulegen.

